

## 異常卵殻の走査電子顕微鏡下の構造

藤井俊策・渉 辰雄・田村達堂

広島大学生物生産学部  
1980年5月6日 受理

### Scanning Electron Microscopy on the Structure of Abnormal Hen's Eggshell

Shunsaku FUJII, Tatsuo WATARI and Tatsudo TAMURA

*Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, Fukuyama*

(Figs. 1-28)

鶏卵には外観や構造に異常のある様々の異常卵がある。ROMANOFF (1949)<sup>1)</sup>は異常卵を大きさ、形状、表面構造、卵殻質、卵殻色素などの外部異常と、血斑や肉斑などの卵内封入物、卵黄異常などの内部異常に分類し、それぞれの異常性ならびに成因について“*The Avian Egg*”に詳しく記載している。異常卵の中で通常的で重要なものは、卵殻の表面構造、卵殻の厚さ、卵殻の緻密性などの卵殻石灰質層の異常である。この層の異常は、卵殻強度、貯蔵性、孵化性、商品性などに直接関係するから、多くの関心が払われている。他方、卵殻異常は卵殻形成機構の歪みによって生ずるから、異常卵殻の構造を調べることは、卵殻形成機構の解明に役立つ。

このような観点から、古くから異常卵殻の構造は肉眼的、光顕的にかなり調べられている。しかし、卵殻は硬組織であるために、標本の作製が比較的困難であり、上記手法では十分な観察ができない。最近では、卵殻構造の観察に走査電子顕微鏡が多く使用されている。著者らも前報<sup>2-5)</sup>において、本装置を用いて正常卵殻の構造、卵殻形成機構について調べ、2, 3の所見を報告した。本報は前報に引続いて、卵殻形成機構の研究の一環として、異常卵殻の微細構造を走査電子顕微鏡を用いて調べた。

### 材料と方法

観察に供した異常卵殻卵は、主として福山経済連のGPセンターから任意に集めた。軟殻卵および薄殻卵は養鶏家から集めた。鶏種は不明であるが、白色卵のみを使用した。

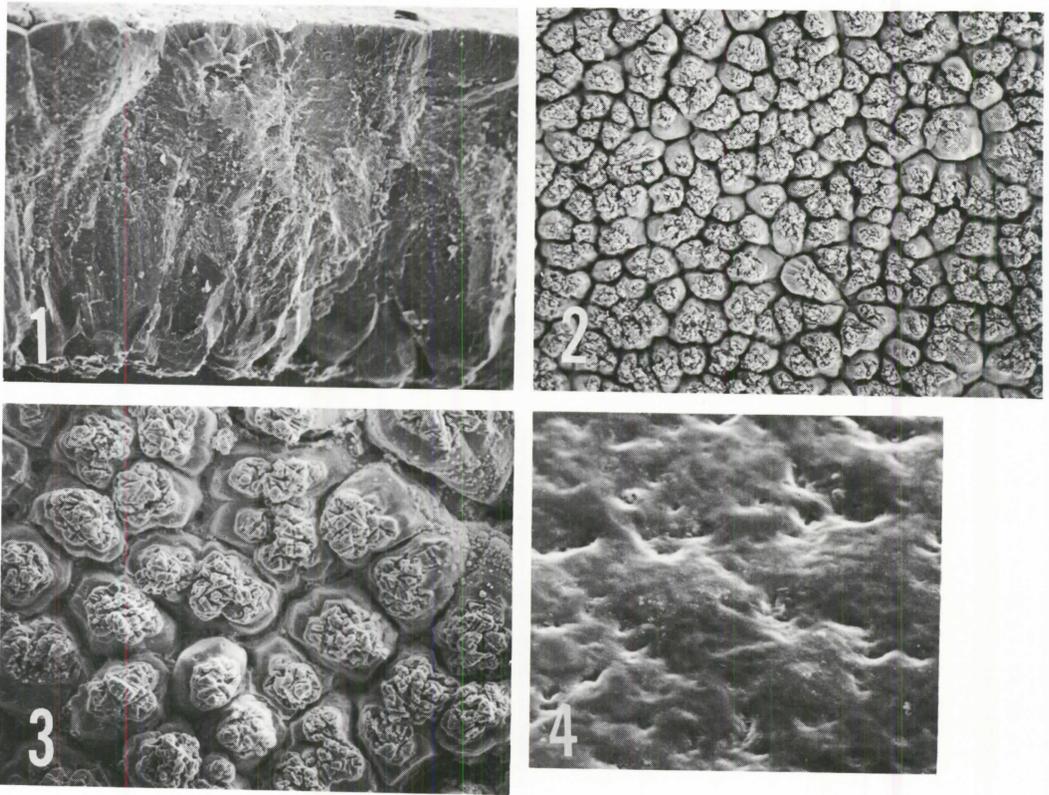
収集した異常卵殻卵には様々のものがあつたが、通常的な数種のものについて観察した。すなわち、卵殻表面に皺状隆起を有する卵殻、疣状突起を有する卵殻、斑状卵殻、ヒビ割れ卵殻、軟卵殻、薄殻であつた。

供試卵はまず割卵して内容物を流出し、卵殻膜もできるだけ除去した。つぎにこの卵殻を10%硫化ソーダ液中で10分間煮沸し、卵殻から有機質を溶出した。卵殻は十分水洗した後、孵卵器内で乾燥した。観察に際しては、異常卵殻部の小塊を切出し、常法にしたがってイオンスパッターを用いて金を蒸着し、走査電子顕微鏡下で観察した。

### 所見と考察

異常卵殻と比較対照するために、最初に正常卵殻の構造を調べた。

正常卵殻 (normal shell) : 正常卵殻の卵殻構造はFig. 1に示すように、内層の乳頭層と外層の海綿層からなっていた。乳頭層はFig. 2と3に示すように、乳頭突起の配列によって構成される層である。乳頭



- Fig. 1. Vertical view of a normal eggshell.  
It is composed of the inner mammillary layer and the outer spongy layer, which constitutes the greater part of the shell thickness. x120.
- Fig. 2. The inner surface of the normal egg shell.  
The mammillary layer is made of numerous conical mammillary knobs arranged regularly. x50.
- Fig. 3. Higher magnification of Fig. 2.  
The mammillary knobs are dome-like and are separated from each other by internammillary clefts. Individual knobs have a mamillary core on their tip, in which many streak-like depressions are engraved by the fibers of the shell membrane. x200.
- Fig. 4. The outer surface of a normal egg shell.  
The shell surface appears relatively smooth except for the slight depressions where the air pores open. x150.

突起は円錐状を呈し、頂端を卵殻膜面に向けて規則正しく並んでいた。各乳頭突起はいずれも頂端に粗性の石灰質塊を載せていた。この部がいわゆる乳頭突起の乳頭核の部である。乳頭核部には縦横に走る線状の切痕が認められた。この切痕は乳頭突起と結合していた外卵殻膜が、硫化ソーダ処理によって融解の結果生じた線維の鑄型である。乳頭突起は周りを深い乳頭間溝によって独立的に隔てられていた。乳頭間溝の底部には気孔管の入口が所々に認められた。

卵殻の主部を構成する海綿層は、Fig. 1 に見るように緻密な石灰質層であって、剖面は平滑であった。卵殻の外表面はFig. 4 に示すように、所々に浅窩が存在し、ここに気孔が開口していた。卵殻表面の卵殻質は緻密であった。

皺状卵殻 (corrugated shell): この卵殻は卵殻表面に皺状隆起を有する異常卵殻である。卵殻皺は卵殻の全面に、あるいは局所に存在し、皺の形状は様々であったが、卵の長軸に走る皺が多く認められた。

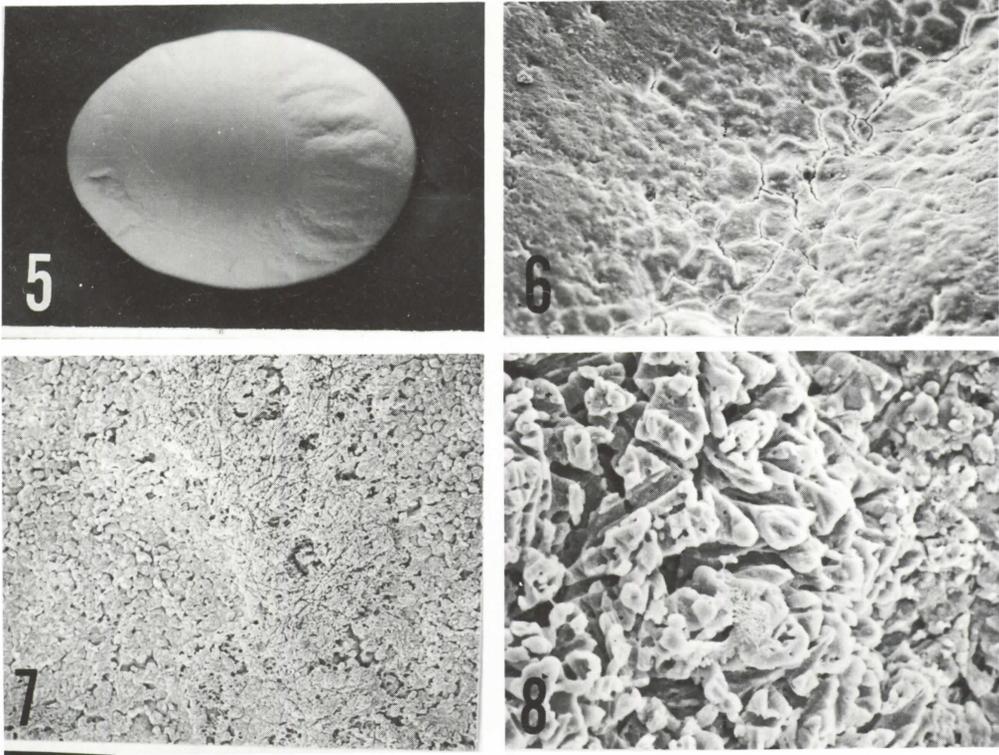


Fig. 5. A ridged shell used in this observation.

Narrow and longitudinal corrugations are observed on both ends of the egg.

Fig. 6. Higher magnification of the ridged area at the blunt end of the egg in Fig. 5.

The protruded portion of corrugations is normal in structure and in shell texture. But the concaved area is very irregular, and exposes the outer surface of the mammillary layer. x200.

Fig. 7. The inner surface just beneath the corrugated portion of Fig. 6.

The mammillary layer corresponding to the protruded area is deformed only slightly, but the one of the concaved area is deformed remarkably in its structure. x50.

Fig. 8. Higher magnification of the central region of Fig. 7.

No mammillary knobs are found. The surface of the mammillary layer appears plane, and is directly engraved by the fibers of the shell membrane. x750.

観察に供した皺状卵殻はFig. 5に示すように、卵の両端に縦走皺を形成していた。観察は鈍端部の皺について行った。卵殻皺の外表面はFig. 6に示すように、皺は隆起部とその間の溝状陥凹部から形成されていた。隆起部の表面構造はほぼ正常であり、卵殻質は緻密であった。これに反し、溝状部の表面は著しく粗雑、多孔性であり、多角形の石灰板様構造物が互いに融合していた。この所見は乳頭層の外表面が直接曝露している像であり、したがって、ここでは海綿層が形成されていないことを示す。この部を横断像で調べたところ、隆起部の卵殻の厚さはほぼ正常であったが、溝状部は著しく菲薄であった。

皺状部の内表面はFig. 7に示すように、乳頭層は著しく乱雑、不規則であった。とくに、卵殻皺の溝状部に対応する乳頭層は、乳頭突起を欠いて平坦化し、その表面には線維状切痕が刻みこまれていた(Fig. 8)。この所見は、正常の乳頭突起を形成することなく、乳頭層と外卵殻膜層が直接接触していたことを示すものである。一方、皺の隆起部に対応する乳頭層はほぼ正常であり、規則正しく乳頭突起が突出していた。

皺状卵殻の成因について、ROMANOFF<sup>1)</sup>は卵殻形成の初期段階において、子宮部の異常圧によって生ずると述べている。COOKE (1970)<sup>6)</sup>は皺状卵殻は薄い卵殻膜の系統種に発生し易く、また同一個体では

卵殻膜が薄くて卵重量が重い場合に生じ易いのをみた。彼はこのことから卵の plumping 時に卵殻膜に皺を生ずるか、または卵殻膜の弱いところに圧力が加わって卵殻膜に歪みが生じ、その結果皺状卵殻になるものと考え、直接的原因を卵殻膜の皺状化においている。

今回の皺状卵殻の観察結果では、上述のように、卵殻皺の隆起部の乳頭層ならび海綿層の形成はほぼ正常であった。しかし、卵殻皺の溝状部の乳頭層は著しく異常であり、また海綿層はほとんど形成されていなかった。したがって、乳頭層の異常が海綿層の形成異常をきたしたものと考えられる。乳頭層の乳頭突起は外卵殻膜の上に形成されるのであるから、卵殻膜に皺など異常があれば、正常の乳頭形成は妨げられることになる。したがって、前述の溝状部乳頭層の著しい局所的異常は、おそらく卵殻膜の皺状化によって生じたものと推察された。

疣状卵殻 (pebbly-textured shell) : この卵殻は卵殻表面に疣状突起を有する異常卵殻である。疣状突起は、大きさ、形状、分布密度において様々であり、卵の鈍端に認められる場合が多かった。観察に供した疣状卵殻は Fig. 9 に示すように、突起は卵殻の全表面に播種状に分布していた。突起部は Fig. 9 に示すように、卵殻表面から外方に隆起し、内側は空洞状に陥凹していた。突起部の卵殻の厚さは、周囲の正常部の厚さと同じであったが、断面は不整であり、卵殻質は粗雑であった。

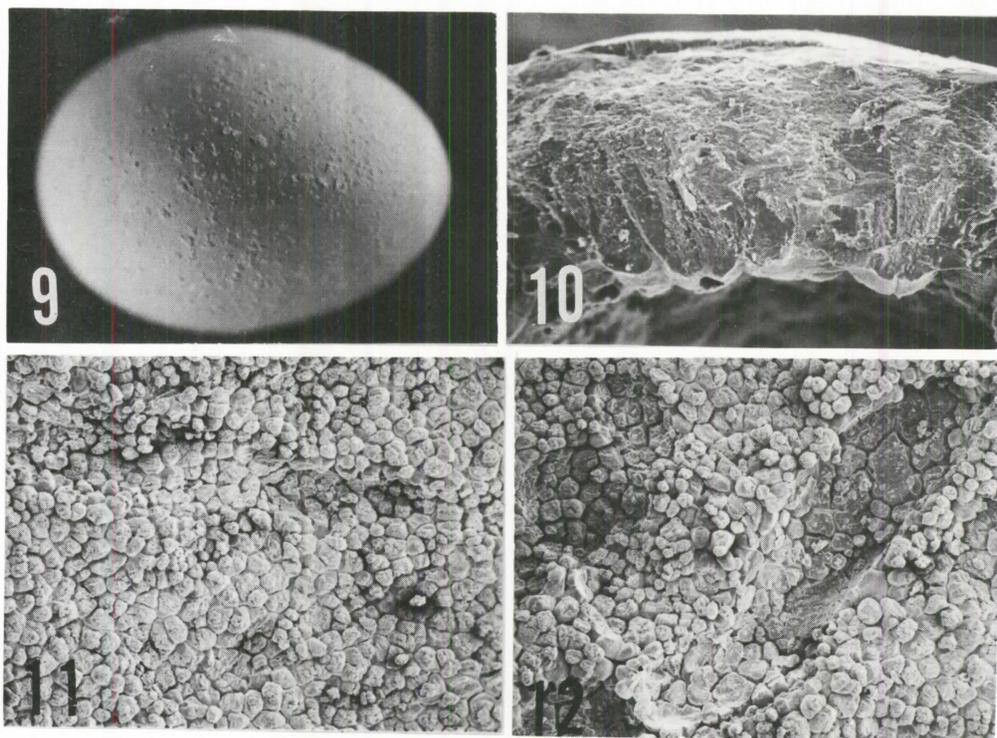


Fig. 9. A pimple-like shell used in this observation.  
Many pebbly prominences varying in size and shape are distributed on the entire shell surface.

Fig. 10. Vertical view through the prominences of Fig. 9.  
The shell surface is convexed externally, but its inside is concaved. Note the rough and porous shell texture. x120.

Fig. 11. Inner surface of the eggshell of Fig. 9.  
Note the various sizes of craters in the mammillary layer, where foreign organic masses are included. x50.

Fig. 12. The larger craters than those of Fig. 11.  
Note the disappearance of the mammillary knobs in the craters. x50.

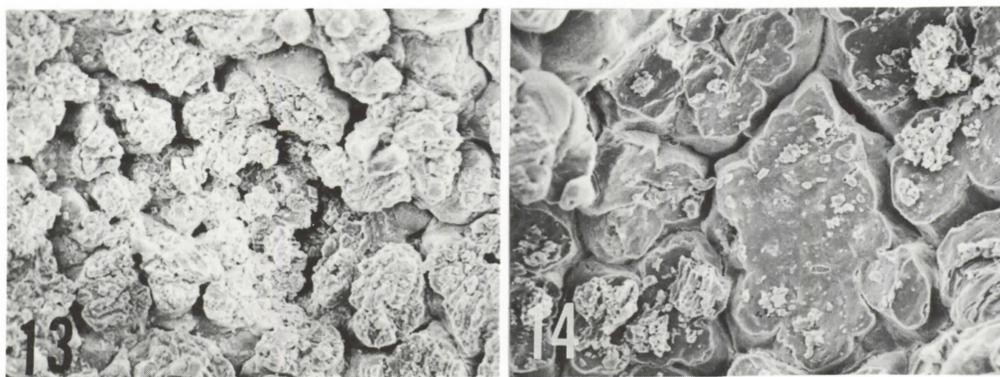


Fig. 13. Higher magnification of the small-sized crater in Fig. 11.

The mammillary cores have an irregular form and appear very porous, due to the incomplete calcification of the knobs. x200.

Fig. 14. Higher magnification of a large-sized crater in Fig. 12.

The mammillary cores are almost left from the knobs due to its high porosity. x200.

突起部の内側面は Fig. 11 と 12 に示すように、乳頭層に大きさの異なる種々の陥没が形成されていた。陥没部の大きさは突起の大きさと一致していた。乳頭層の乳頭突起は正常構造であったが、陥没部の乳頭突起はかなり変形しており、その異常性は陥没部の大きさと関連していた。一般に小陥没部の乳頭突起は正常よりも小さく、配列が乱れていた。乳頭突起の乳頭核部の卵殻質は粗雑化していた (Fig. 11 と 13)。一方、大きい陥没部の乳頭突起は Fig. 12 と 14 に示すように、一層変形し、ほとんどの乳頭突起は乳頭核部を消失し、平坦な乳頭表面を現わしていた。このように、乳頭核が消失しているのは、この部分が十分に石灰化していないために、硫化ソーダ処置で崩壊したためと考えられた。

卵殻の疣状突起の形成について、ROMANOFF<sup>1)</sup> は卵殻形成の初期に、外卵殻膜上に有機質凝塊が沈着し、これによって卵殻が突起状に隆起すると述べている。また、BALE ら (1973)<sup>7)</sup> は疣状卵殻を光学顕微鏡下で調べ、同様に有機質凝塊が乳頭層に存在していることを認めた。今回の観察では卵殻から有機物を溶出した卵殻を用いたので、この有機質凝塊を直接的に証明することはできなかった。しかし、乳頭層の陥没部は、そのような異物によって形成されたことは明らかである。陥没部の乳頭突起が異常であったのは、有機質凝塊物が異物として作用し、正常の乳頭形成が妨げられたためと考えられた。

疣状卵殻には上記のものとは異なる別の型のものが観察された。これは Fig. 15 に示すように、突起はやや大形で、卵殻表面に附加的に沈着しているような像を呈していた。突起の外表面は Fig. 16 に示すように、卵殻質は非常に粗雑で、しかも石灰質が不均等に沈着しているために大きな隙間を残していた。突起部の横断像は Fig. 17 に示すように、海綿層の表層下に大きな空洞が認められた。空洞部の下方の海綿層ならびに乳頭層は正常構造であった。この海綿層の空洞には、前記の疣状突起における同様に、有機質の凝塊が存在していたことは明らかである。したがって本例では、海綿層の形成途中に異物が沈着し、これを包むように石灰沈着が進んだものである。この有機質異物が海綿層の形成を阻害することは、石灰質層が緻密性を欠いていたことからもうかがえる。

以上のような 2 型の疣状卵殻は、成因的には全く同一であり、いずれも有機質凝塊が卵殻形成過程において時期を異にして沈着したものである。すなわち、前者は有機質凝塊が乳頭層形成期に卵殻膜上に、後者は海綿層形成期に既に形成された海綿層上にそれぞれ沈着したものである。

有機質凝塊の起源に関しては種々の見解がある。ROMANOFF<sup>1)</sup> は卵白の小塊と考え、BALE ら<sup>7)</sup> は少なくとも卵殻膜成分ではなく、HELBACKA (1958)<sup>8)</sup> の肉斑の可能性もあるが、多分卵白様物質であろうと述べている。有機質凝塊の本体は別として、このような卵管内由来の凝塊が疣状卵殻の形成に関与していることは今回の観察で明らかとなった。

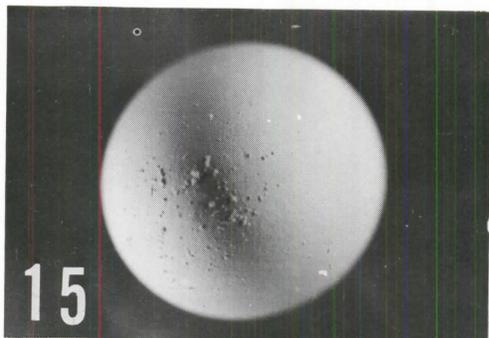


Fig. 15. An egg with pebbly prominences differing from the one of Fig. 9.

Prominences are observed at the blunt end of the egg. They appear larger in size and more porous in shell texture than that of Fig. 9.

Fig. 16. The outer surface of a prominence in Fig. 15.

The shell shows large splits on its surface, due to the incomplete sealing by additional calcification. The shell texture is highly porous. x200.

Fig. 17. Vertical view of a prominence in Fig. 15.

Note the large holes in the spongy layer, where foreign organic masses are included. x150.

斑状卵殻 (mottled shell): この卵殻は外観上は正常に見えるが、キャンドリングによって透明斑点を示す異常卵殻である。斑状卵殻は卵殻強度との関連において多くの報告<sup>9-12)</sup>がある。卵殻の斑点に種々の程度のものがあるが、観察に供した卵殻は Fig. 18 に示すような中等度の斑状卵殻であった。本例の卵殻表面は Fig. 19 に示すように、卵殻質は粗雑であり、とくに外気孔口の周辺は多孔性であった。卵殻の横断像は Fig. 20 のように、割面は正常卵 (Fig. 1) に比べて不整、脆弱に見えた。海綿層の表層部とその中心部に、散在的に卵殻質の粗雑部が認められた。乳頭層の構造は正常であったが、卵殻質はやや粗雑であった。

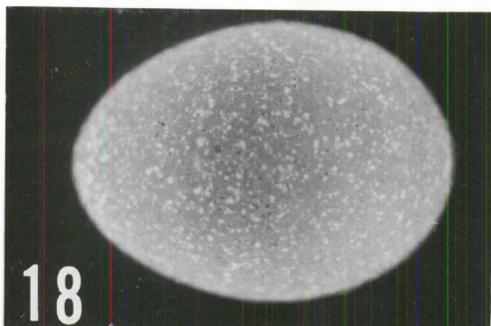


Fig. 18. Candling appearance of mottled shell used in this observation.  
The mottling of the shell has a moderate grade.

Fig. 19. Outer surface of the eggshell of Fig. 18.  
Note the high porosity of the shell surface, especially in the region around the air pores. x200.



Fig. 20. Vertical view of the mottled shell in Fig. 18. The formation of the mammillary layer is normal, but the superficial and middle region of the spongy layer is porous in its shell texture. x120.

以上のように、斑状卵殻は卵殻質の緻密性が局部的に劣る以外は、大きな構造的異常は認められなかった。HOLST ら<sup>9)</sup>は卵殻の斑状化は、放卵後の経過とともに進行することから、卵殻質の水分の不平等性によるものと推察した。ALMQUIST ら<sup>10)</sup>は斑状卵殻は蛋白質含量が多く、炭酸カルシウムが少いことから、同様に水分の分布異常が関係しているものと考えた。上記所見のように、海綿層に粗雑部位が所々に認められたことは、この部分に水分や有機質成分が多く存在していたことによるものと考えられた。

ヒビ割れ卵殻 (checked shell) : この卵殻はキャンドリングによって卵殻にヒビ割れ状の斑紋がみられる卵殻である。観察に供した卵殻は Fig. 21 に示すように、赤道部に微かにヒビ割れ像が認められた。本例はヒビ割れを除いては、卵殻表面構造、卵殻の厚さなどは正常であった。卵殻の内面は Fig. 22 に示す

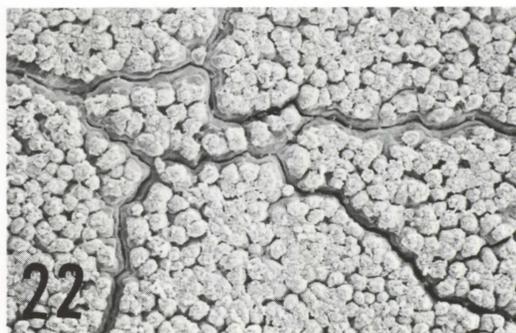
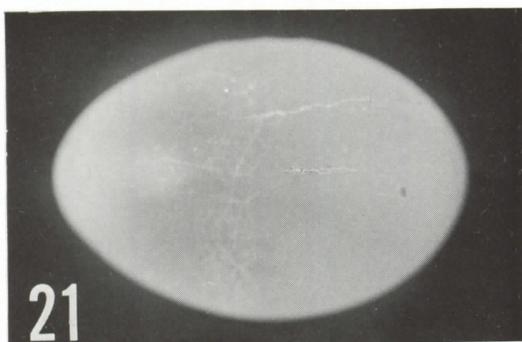
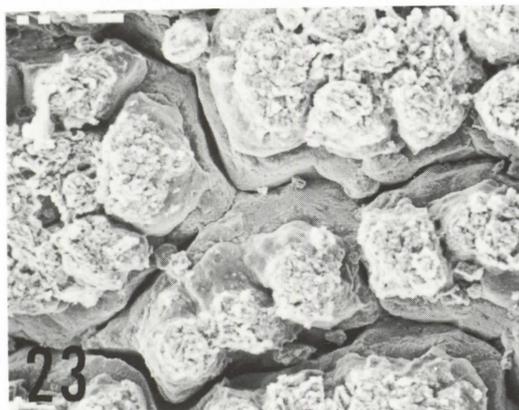


Fig. 21. Candling appearance of a checked shell used in this observation. Slight traces of net-like checks are visible at the equatorial region of the egg.

Fig. 22. The inner surface of the egg in Fig. 21. Note fine cracks running among the mammillary knobs. x50.

Fig. 23. Higher magnification of Fig. 22. The cracks are not sealed by the addition of calcific material, and they stretched to the spongy layer, about one-fourth levels from the bottom of the shell thickness. x200.



ように、乳頭突起の間を縫うように走る線状の裂溝が認められた。裂溝はかなり深く、海綿層の下層 $\frac{1}{4}$ 程度まで及んでおり、これより上層では完全に修復されていた。乳頭突起の構造は正常であった。

このヒビ割れ卵殻は、ヒビ割れが海綿層において修復されていることから、乳頭層の完成した時期に物理的に裂けた単純なヒビ割れとみなされた。

薄殻卵 (thin-shelled egg) : この卵は卵殻の厚さが正常より薄い卵である。観察に供した薄殻卵の卵殻の厚さは約 0.2 mm であった。卵殻の横断像は Fig. 24 に示すように、乳頭層の構造は正常であるが、海綿層の割面は不整、粗雑であった。外表面は Fig. 25 に示すように、卵殻質は著しく粗雑であり、正常卵殻に比べてはるかに多い気孔管が認められた。気孔管が多いのは、海綿層が十分に形成されていないためである。この中の小さい気孔管は、海綿層の形成が進むと、やがては閉鎖される。以上の所見から、本例は海綿層が完成する以前に放卵された薄殻卵とみなされた。

薄殻卵には上記のものとは異なる別の型の薄殻卵が観察された。この例は卵殻の厚さが約 0.15 mm であった。卵殻の横断像は Fig. 26 に示すよう、卵殻は薄いのが、海綿層の割面は平滑、緻密であった。乳頭層

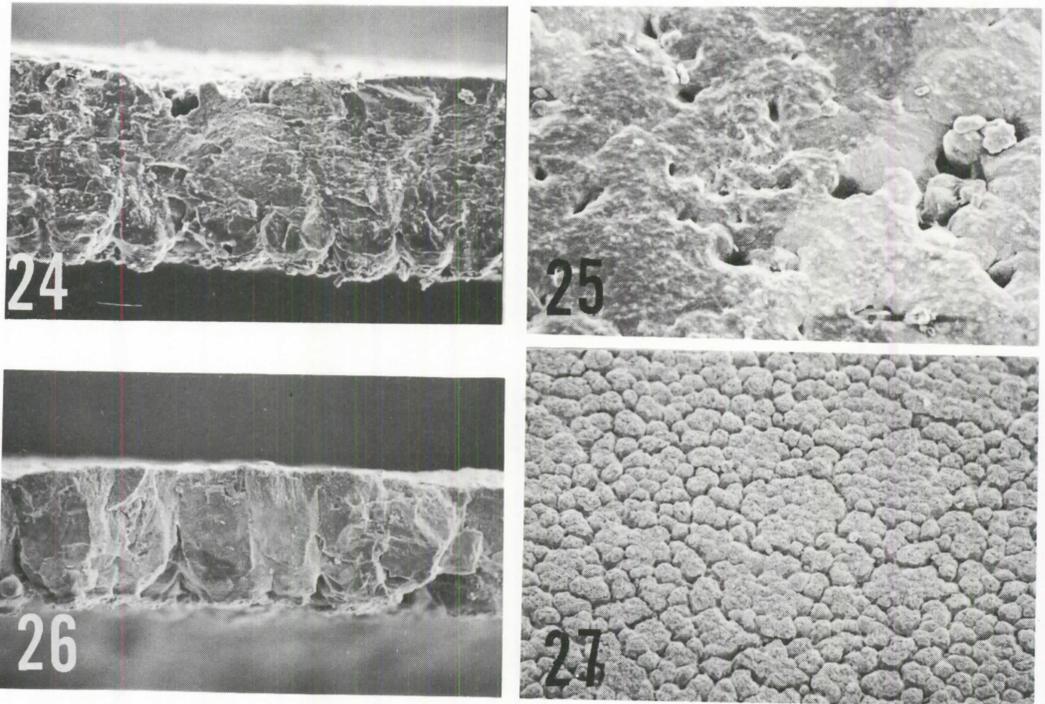


Fig. 24. Vertical view of a thin-shelled egg.

The thickness of the shell is about 0.2 mm, and it appears seemingly normal except for the thinness of the shell,  $\times 120$ .

Fig. 25. The outer surface of the shell in Fig. 24.

The shell surface is porous, and large air pores are visible. This egg is considered to have been expelled prematurely during its shell formation.  $\times 200$ .

Fig. 26. Vertical view of another type of thin-shelled egg different from that of Fig. 24.

This egg shell is about 0.15 mm thick. It appears almost normal because it has a dense and compact spongy layer. But the mammillary layer appears low in height.  $\times 120$ .

Fig. 27. Inner surface of the egg in Fig. 26.

The mammillary layer is considerably low and the mammillary cores tend to fuse each other. This egg is considered not to have reached its full thickness due to the defective formation of the mammillary layer.  $\times 30$ .

の乳頭突起は高さがやや低いように見えた。内表面は Fig. 27 に示すように、乳頭突起は低く、各突起は互いに融合する傾向を示していた。したがって本例は、多分乳頭層の異常性によって、海綿層が正常の厚さに達し得なかった薄殻卵と考えられた。ROBINSONら (1970)<sup>13)</sup>、KINGら (1972)<sup>14)</sup>は薄殻で卵殻強度の劣るものは、乳頭層が低く、割面が不整の傾向にあったと、今回の観察と同一所見を報告している。

軟卵殻 (soft shell)：軟卵殻はしばしば産卵される異常卵である。軟卵殻は硫化ソーダ処理によって完全に崩壊するので、産出したままの状態で調べた。観察に供した試料は非常に柔らかい軟殻卵であった。

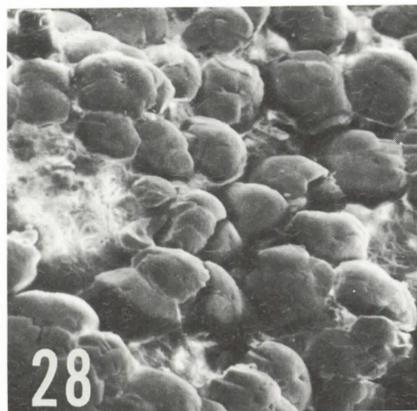


Fig. 28. Outer surface of a soft-shelled egg.  
The egg shell is formed only by the developing mammillary knobs, so that it was expelled prematurely during the formation of the mammillary layer. x300.

本例は Fig. 28 に示すように、円錐状を呈した乳頭突起だけが外卵殻膜の上に配列していた。乳頭突起は全く融合していなかった。これは明らかに乳頭層形成期の像である。乳頭突起はやがて外方に向けて石灰沈着が進み、最後は互いに融合して乳頭層が完成するのである。軟殻卵はこのように卵殻形成の初期の乳頭層形成期に排出されたものである。

以上の異常卵殻の構造観察の結果を要約すると、斑状卵殻、軟卵殻、薄殻などの例を除き、少くとも外観において海綿層に異常のある卵殻は、共通的に乳頭層に異常性をもっていた。したがって、乳頭層に異常があれば、正常の海綿層形成は不能となる。さらに乳頭層の異常は直接的には乳頭核の形成異常に起因し、間接的には卵殻膜の異常形成が関係していた。したがって、正常な卵殻形成には、正常な卵殻膜形成が前提となるといえる。

## 要 約

本研究は数種の異常卵殻の微細構造を走査電子顕微鏡下で調べた。観察は10%硫化ソーダで卵殻から有機質を除いた試料で行った。主な所見は以下のとおりであった。

- (1) 皺状卵殻 (corrugated shell) の卵殻皺の隆起部の構造は正常であったが、隆起部間の溝状部では乳頭層の異常が顕著であり、同時に海綿層の形成不全を伴っていた。
- (2) 疣状卵殻 (pebbly-textured shell) は2型に大別された。一つは外卵殻膜の上に有機性凝塊が沈着し、これによって卵殻石灰質層が隆起したものであった。卵殻乳頭層に有機性凝塊に対応する大きさの陥没部が形成されており、この部の乳頭突起は異常であった。他の一つは卵殻海綿層に有機物凝塊が沈着し、これによって海綿質が隆起したものであった。海綿質層に有機物凝塊に対応する空洞が形成されていた。両者いずれの場合にも隆起部の卵殻質は粗雑であった。
- (3) 斑状卵殻 (mottled shell) は卵殻構造は正常であったが、卵殻質は卵殻表層と海綿層が散在的に粗雑であった。
- (4) ヒビ割れ卵殻 (checked shell) は乳頭層に裂け目を生じていた。裂け目は海綿層の深層に達していたが、上層では完全に修復されていた。
- (5) 薄殻 (thin shell) は2型に大別された。一つは海綿層の形成過程に産出されたものであり、粗雑な卵殻質を有するものであった。他の一つは卵殻質は緻密であるが、乳頭層に欠陥があって海綿層が正常の

厚さに達し得ないものであった。

(6) 軟卵殻 (soft shell) は乳頭層の形成過程において放出されたものであり、発達中の乳頭突起だけからなっていた。

(7) 外観の異常を伴う卵殻は共通的に乳頭層が異常であった。乳頭層の異常は乳頭突起の乳頭核の異常に起因していた。

## 文 献

- 1) ROMANOFF, A. L. and ROMANOFF, A. J. : in "The Avian Egg", pp. 255-307, John Wiley & Sons, Inc., New York (1949).
- 2) 藤井俊策・田村達堂 : 広大水畜紀要, **8**, 85-98 (1969).
- 3) FUJII, S. and TAMURA, T. : *J. Fac. Fish, Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, **9**, 65-81 (1970).
- 4) FUJII, S., TAMURA, T., and OKAMOTO, T. : *Ibid.*, **9**, 139-150 (1970).
- 5) FUJII, S. : *Ibid.*, **13**, 29-56 (1974).
- 6) COOKE, A. S. : *Br. Poult. Sci.*, **11**, 291-297 (1970).
- 7) BALE, R. F., MACKIN, R. J., HILL, J. F., and WYATT, A. J. : *Poult. Sci.*, **52**, 500-506 (1973).
- 8) HELBACKA, N. V. L. and SWANSON M. H. : *Ibid.*, **37**, 869-885 (1958).
- 9) HOLST, W. F., ALMQUIST, H. J., and LORENZ, F. W. : *Ibid.*, **11**, 144-149 (1932).
- 10) ALMQUIST, M. J. and BURMESTER, B. R. : *Ibid.*, **13**, 116-122 (1934).
- 11) BAKER, R. C. and CURTISS, R. : *Ibid.*, **36**, 904-908 (1957).
- 12) DENISON, J. W. : *Ibid.*, **46**, 771-772 (1967).
- 13) ROBINSON, D. S. and KING, N. R. : *Br. Poult. Sci.*, **11**, 39-44 (1970).
- 14) KING, N. R. and ROBINSON, D. S. : *Journal of Microscopy*, **95**, 437-443 (1972).

## Summary

The fine structure of various abnormal eggshells of hens were examined under scanning electron microscope. The findings are as follows.

1. Corrugated shells had remarkable and specific abnormalities in their structure. The protruded area of wrinkles was normal as for its structure and shell texture, whereas the concaved area between the wrinkles was particularly thin due to the deficiency of the spongy layer. The mammillary layer just beneath the protruding wrinkles was almost normal in structure, whereas the one of the concaved area showed no complete formation.

2. Rough and pebbly-textured shells were classified into two types. One had prominences which were made by the deposition of foreign organic masses on the shell membrane in the early stage of the formation of the mammillary knobs. In this case, various sizes of craters, in which the formation of the mammillary knobs had been extensively disturbed, were formed in the mammillary layer. Other prominences were made by the deposition of similar objects on the fairly developed spongy layer. In this case, no abnormalities of the mammillary layer were detected.

3. Mottled shells had a highly rough and very porous shell texture, particularly in the superficial layer of the shell and the spongy layer around the air pores. The remainder of the shell was normal.

4. Checked shells had internally streak-like clefts in the mammillary layer, these extended into the deep layer of the mammillary layer. These cracks had not been sealed by the

addition of calcified material, so that they must have been formed in the early stage of the shell formation.

5. Thin-shelled eggs were divided into two types. One was the thin shell with large air pores during its formation and with a porous shell texture. They were expelled before the full formation of the spongy layer. Another type was the thin shell which did not develop to normal thickness due to its incomplete mammillary layer.

6. Soft-shelled eggs had only the developing mammillary knobs on the surface of the shell membrane. They were expelled prematurely in the course of the formation of the mammillary layer.

7. From the above results, it is considered that the abnormality of eggshells is caused mostly by the incompleteness of the mammillary knobs, and that the formation of the mammillary knobs is influenced by the degree of normality of the shell membrane formation.